

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У БЛОХ,  
ВЫЗЫВАЕМЫЕ ДЕЙСТВИЕМ ЭКЗОТОКСИНА  
*BACILLUS THURINGIENSIS*

В. Н. Прокопьев, Б. М. Якунин, В. Д. Червяков,  
А. М. Дубицкий

Среднеазиатский научно-исследовательский противочумный  
институт, Алма-Ата

Описано патогенное действие препарата кристаллического экзотоксина *Bacillus thuringiensis* на личинок блох. Возникшие при этом различные уродства и нарушения функции органов и тканей у отравленных личинок и у развившихся от последних имаго приводят к преждевременной их гибели (до 100%) или к бесплодию оставшихся особей.

На специальном совещании ВОЗ в Женеве в 1963 г. обсуждалась необходимость развития биологических методов борьбы с членистоногими, имеющими медицинское значение, в частности с клещами и блохами. Миронов и Шевченко (1971) привлекают внимание к испытанию действия спорообразующих бактерий на личинок блох. Мы описали действие экзотоксина *Bac. thuringiensis* на личинок блох грызунов. Удовлетворительный эффект проведенных опытов позволяет надеяться на возможность применения этого метода при интегрированной борьбе с блохами в природных очагах чумы. Известно, что бактериальные препараты на основе *Bac. thuringiensis* высоковирулентны, сравнительно дешевы и характеризуются длительным сохранением активности. Указанный экзотоксин обладает тератологическим действием на насекомых многих отрядов и особенно эффективен против личиночных стадий (Krieg, 1969; Гургенидзе, 1971; Гребельский и др., 1972), что подтверждено нами и на личинках блох. На имагинальную стадию последних препарат не действует, поскольку попадает в организм только алиментарным путем. Тем не менее известно его проникновение через хорион яиц *Acheta domesticus* после 30—110 час. инкубации (Tremblay et al., 1972). Овицидная активность обусловлена присутствием  $\beta$ -экзотоксина (Гребельский и др., 1972). Следовательно, при длительном нахождении яиц блох в среде с экзотоксином не исключено попадание в них яда.

В настоящей работе излагаются результаты изучения патогенного действия экзотоксина *Bac. thuringiensis* на блох трех видов (*Xenopsylla cheopis*, *X. gerbilli minas* и *Ceratophyllus laeviceps*) в процессе их онтогенеза. Всего в опыты было взято 4520 личинок, из них 520 в качестве контроля (см. таблицу). Все выплывающие блохи в живом виде просматривались под микроскопом. Особей с видимыми уродствами заделывали в бальзамный препарат для детального изучения их наружного строения. Часть блох из числа уродливых вскрывалась для рассмотрения скрытой патологии во внутренних органах и тканях. Анатомировались также блохи без видимых наружных патологических изменений, отсутствие которых далеко не всегда является признаком нормы.

В работе мы применяли концентрированный кристаллический экзотоксин в порошке, полученный из лаборатории Института зоологии

Результаты действия экзотоксина *Bacillus thuringiensis* на личинок блох

| Вид блохи                | Концентрация экзотоксина (в г) | Количество взятых в опыт личинок | Из них окуклилось | Выплодилось имаго | % гибели |
|--------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------|-------------------|----------|
| <i>X. cheopis</i>        | 2                              | 400                              | 24                | 6                 | 98.5     |
|                          | 1.5                            | 400                              | 8                 | 4                 | 99       |
|                          | 1                              | 300                              | 36                | 5                 | 98.4     |
|                          | 0.5                            | 500                              | 62                | 15                | 97       |
|                          | 0.1                            | 400                              | 50                | 13                | 96.8     |
|                          | 0.02                           | 100                              | 16                | 5                 | 95       |
|                          | 0.01                           | 100                              | 24                | 7                 | 93       |
|                          | Контроль                       | 320                              | 297               | 295               | 8        |
| <i>X. gerbilli minax</i> | 2                              | 100                              | 0                 | 0                 | 100      |
|                          | 1.5                            | 200                              | 1                 | 0                 | 100      |
|                          | 1                              | 200                              | 2                 | 0                 | 100      |
|                          | 0.5                            | 200                              | 3                 | 0                 | 100      |
|                          | 0.25                           | 100                              | 3                 | 3                 | 97       |
|                          | 0.1                            | 200                              | 28                | 2                 | 99       |
|                          | Контроль                       | 100                              | 75                | 52                | 48       |
| <i>C. laeviceps</i>      | 2                              | 100                              | 6                 | 3                 | 97       |
|                          | 1.5                            | 100                              | 7                 | 0                 | 100      |
|                          | 1                              | 100                              | 15                | 1                 | 99       |
|                          | 0.5                            | 100                              | 13                | 5                 | 95       |
|                          | 0.25                           | 100                              | 4                 | 0                 | 100      |
|                          | 0.05                           | 100                              | 17                | 16                | 84       |
|                          | 0.02                           | 100                              | 54                | 46                | 54       |
|                          | 0.01                           | 100                              | 4                 | 3                 | 97       |
|                          | Контроль                       | 100                              | 78                | 77                | 23       |

АН КазССР. Личинки блох, взятые из инсектария, помещались в банки с субстратом, состоящим из 10 г прокаленного песка и 0.2 г сухой бычьей крови, куда добавляли порошок экзотоксина (от 0.01 до 2 г). Контролем служили личинки тех же видов, развивающиеся в данном субстрате без токсина. Эксперимент проводили при температуре 18—22° и относительной влажности воздуха 90—95% в эксикаторах, куда ставили банки с подопытными личинками. Результаты опытов учитывали после полного выплода блох.

Симптоматология отравления блох экзотоксином, начиная с личиночной стадии, проходит несколько этапов, скорость наступления которых зависит от концентрации яда. Действие экзотоксина обычно начинает проявляться на 4—5-й день. При этом резко подавляется локомоторная активность личинок, они мало питаются. Через день-два такие особи, обычно утратив способность к линьке и завивке кокона, почти все погибали.

Гибель наступала и в период активного питания до подготовки к линьке (у *X. cheopis* смертность на этой стадии достигала 21%). Мертвые личинки становились черными, тогда как непораженные обычно после гибели бурые. Оставшиеся в живых личинки окукливались, не образуя кокона, а единичные строили коконы, отличающиеся рыхлым плетением и достоверно меньшими размерами по сравнению с контролем. Среди выплывших из них имаго наблюдалось довольно много уродливых.

Уродства начинают проявляться уже на личиночной стадии, обычно после линьки, и в первую очередь затрагивают на пораженных сегментах крупные щетинки главного ряда. Характер этих уродств чрезвычайно разнообразен и касается главным образом формы щетинок. Последние видоизменяются, начиная от простого искривления одновременно с укорочением, а также расщеплением, сплющиванием и кончая полным их исчезновением.

Различные патологические явления, вызываемые экзотоксином, сказывались и на процессах метаморфоза, удлиняя сроки развития преимагинальных стадий, делая невозможными линьку, плетение кокона и

выплод имаго. Удлинение сроков развития является следствием пониженной активности питания личинки, а также длительности самого процесса линьки, механизм которой нарушается, по-видимому, из-за нарушения экскреторной функции личиночных желез. Последнее приводит к тому, что линная шкурка не может быть сброшена из-за отсутствия внутренней смазки или сбрасывается с большим трудом. В ходе этого процесса задний конец тела отделяется от старой шкурки, сокращаясь и перегоняя гемолимфу вперед. При этом нежные зачатки кутикулярных образований повреждаются и сминаются, в результате чего образуются различного вида уродства. При искривлении ног концы их обычно бывают подвернуты вперед, а куколочный экзвий после выплода часто остается на смятых ногах, дополнительно затрудняя движения уродливой блохи.

В патологических случаях линька может остановиться на любой стадии этого процесса, чаще всего на начальных и средних. К подобным вариантам патологии относятся неспособность отделения хвостовой части тела от старой шкурки, полное или частичное нераскрытие линного шва, остановка процесса линьки после освобождения головы, грудных и частично брюшных сегментов, отсутствие выхода или неполный выход старой кутикулярной выстилки пищеварительного тракта. При этом сброшенная шкурка личинки некоторое время держится на нити, состоящей из старой кутикулы задней или передней кишки.

Наблюдения показали, что большинство личинок, особенно младшего возраста, гибнет в безрезультатных потугах к линьке. У таких особей координация движений резко нарушена, тело сокращено, щетинки торчат, личиночный шов не вскрывается, в перерывах между потугами ослабевшая личинка лежит в неподвижности. В начальной стадии потуги более активны, сокращения сердечной трубки учащаются до 132 раз в минуту, т. е. близки к своему верхнему пределу. В дальнейшем активность потуг снижается, частота сокращений сердца падает до 70—56. Затем происходит дальнейшее угнетение сердечной деятельности и постепенное прекращение попыток к линьке, что ведет к гибели несליнявшей личинки. Погибшие особи имеют укороченное и утолщенное в области грудных сегментов тело.

Наблюдали случаи незавершенной линьки, когда куколка продолжала развиваться в чехле старой личиночной шкурки. Сформировавшаяся в такой куколке блоха, стянутая двойным чехлом личиночного и куколочного экзвия, получала различные уродства: искривление ротовых органов, смятые ноги, вытянутое в длину брюшко и др. Патологическая линька иногда завершается, но и в таких случаях перелинявшая личинка, куколка и выплотившаяся блоха имеют уродливые черты, особенно сильно проявляющиеся при превращении куколки в имаго.

У личинок, отравленных экзотоксином, шелкоотделительная железа отстает в своем развитии (у *X. cheopis* она занимает всего до 1.5 сегментов тела), и ко времени подготовки к окуклиению запасы шелка оказываются очень скудными. Такая личинка, не имеющая возможности выделять шелк наружу, не образует кокона. В тех случаях, когда шелк частично выделяется, кокон получается несколько уменьшенным, рыхлым, иногда типа «матрасика».

Наиболее заметные имагинальные уродства, вызванные неправильным ходом линьки, следующие: нарушение конфигурации тела, значительные искривления ног и ротовых органов, изменения хетотаксии, смещения и уродства семеприемника, искривление частей модифицированных сегментов самца. Искривление ротовых органов происходит в момент сбрасывания личиночной шкурки. При незавершенной линьке передней кишки хоботок и челюстные щупики, находящиеся в головной капсуле, сгибаются вперед. При задержке линьки на последней стадии процесса мягкие ротовые органы имаго затвердевают в таком положении.

В патологии щетинок взрослых блох имеются случаи видоизменений, отличные от описанных у личинок. Например, искривленные щетинки могут врастать в покровы тела своими вершинами. Они короче, но

толще обычных. Разнообразнее и чаще, чем у личинок, встречаются и иные уродства хет (крестообразные формы с двумя, тремя и даже четырьмя вершинами). Наиболее высок процент особей с аномалиями предпигидиальных щетинок, шпор и щетинок ног, анальных сегментов, трихоботриев пигидия и т. д. К редким имагинальным уродствам относятся (в порядке убывания) искривление ротовых органов, челюстных щупиков, модифицированных сегментов самца, ущербность головы, усиков (по одному-два случая). Необычный вид уродства наблюдался в сочленении бедра и голени у *X. gerbilli minax*. У рассмотренного экземпляра самки длина феморальной сочленовной поверхности голени оказалась в три раза меньше, чем тиббиальная сочленовная поверхность бедра.

Описанные структурные изменения органов и частей тела приводят к полным или частичным нарушениям их функции. Так, блохи с искривленными ротовыми органами оказались не в состоянии проколоть кожу для кровососания при многократных попытках к этому. При сильно искривленных ногах насекомое неспособно не только прыгать и ходить, но даже и стоять на них. Такая блоха при попытках к локомоции, лежа на боку, совершает беспорядочные движения ногами.

Значительные изменения происходят во внутренних органах и тканях имаго. Так, жировое тело сильно изменяется в результате слияния жировых капель и уменьшается в объеме, что связано, вероятно, с понижением активности питания отравленных личинок.

Интересный вид нарушения структуры слюнных желез зафиксирован у имаго *X. gerbilli minax*. У рассмотренного экземпляра блохи патологические слюнные железы сохранились по одной с каждой стороны вместо обычных парных. На левом слюнном протоке ясно заметен остаток исчезнувшей железы с участком протока. Оставшиеся железы представлены одними лишь колбочками внутренней выстилки без подлежащего железистого эпителия. Данная аномалия, по-видимому, произошла в результате полного отслоения эпителиальных клеток. Довольно значительное отслоение клеток в кардиальной части желудочного эпителия наблюдалось у самки *X. cheopis*. Подобное описано и у других насекомых (Лескова, 1968; Полтев и др., 1969; Ali a. oth., 1973).

Вполне вероятно, что большинство блох, выплотившихся с аномалиями, неспособно к дальнейшей нормальной жизни и размножению из-за невозможности нападения на хозяина, кровососания, нормального пищеварения, спаривания. У взрослых особей, которые не имеют видимых нарушений, происходят изменения тканевой структуры, что может привести к преждевременной их гибели или бесплодию.

Таким образом, испытанный нами препарат кристаллического экзотоксина *Bac. thuringiensis* действует в основном на органы и ткани блох эктодермального происхождения и на экскреторные органы, вызывая нарушения в их строении и функции. В ходе онтогенеза эти нарушения усиливаются и ведут к летальному исходу. Степень патогенного действия экзотоксина возрастает при применении яда на более ранних стадиях развития блох и при повышении его концентрации.

### Л и т е р а т у р а

- Гребельский С. Г., Кандыбин Н. В., Шарафутдинов Ш. А., Стусь А. А., Симонова Л. А. 1972. Действие битоксибациллина на разные фазы развития насекомых и клещей. В кн.: Патогенные микроорганизмы вредителей растений. Изд. «Зинатне», Рига: 46—47.
- Гургендзе Г. В. 1971. Изучение биологической активности и механизма действия термостабильного экзотоксина *Bacillus thuringiensis* на некоторых двукрылых. Автореф. канд. дисс. М.
- Лескова А. Я. 1968. Гистопатология некоторых гусениц при инфицировании их *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*. В кн.: Биологический метод борьбы с вредителями растений. Изд. «Зинатне», Рига: 87—92.
- Миронов Н. П., Шевченко С. Ф. 1971. Перспективы изучения биологических методов борьбы с носителями и переносчиками возбудителей особо опасных инфекций. Пробл. особо опасных инфекций. Саратов 2 (18): 190—195.

- Полтев В. И., Гриценко И. Н., Егорова А. И., Кальвиш Т. К., Туркевич Л. Л., Ушакова Н. В. 1969. Микрофлора насекомых. Изд. «Наука», Новосибирск: 1—270.
- Ali A. D., Abdellatif M. A., Bakry N. M., El-Sawaf S. K. 1973. Histopatological effect of Thuricide-HP on larvae of *Galleria mellonella* L. Z. Angew. Entomol., 72 (3): 295—299.
- Krieg A. 1969. Über das Exotoxin von *Bacillus thuringiensis* Berliner. Tagungsber. Dtsch. Akad. Landwirtschaftswiss., 80 (2): 441—448.
- Tremblay F. L. J., Huot L., Perron J. M. 1972. Penetration de l'exotoxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* a'travers le chorion d'*Acheta domesticus*. Entomol. exp. et appl., 15 (3): 397—398.
- 

PATHOLOGICAL CHANGES IN FLEAS CAUSED  
BY THE EXOTOXIN OF *BACILLUS THURINGIENSIS*

V. N. Prokopjev, B. M. Jakunin, V. D. Chervjakov, A. M. Dybickiy

S U M M A R Y

Pathogenic effect of the crystalline exotoxine of *Bacillus thuringiensis* on the larvae of fleas was investigated. Deformities and changes in the functions of organs and tissues caused by the exotoxin in larvae and imago developed from the latter result in the premature death of the individuals (to 100%) or in the sterility of the remaining fleas.

---